

サーファクタントアポタンパクによる RDSの診断に関する研究

埼玉医科大学総合医療センター小児科

小川 雄之亮, 神谷 賢二
江口 秀史

名古屋市立大学医学部小児科

横井 吉和, 加藤 泰治
戸 莉 創

聖隷浜松病院小児科

犬飼 和久, 鬼頭 秀行
小川 次郎

研究目的

肺サーファクタントは脂質蛋白複合体であり、その蛋白部分には肺サーファクタントに特異的な蛋白が存在する。我々はこの特異蛋白、すなわち肺サーファクタントのアポ蛋白に注目し、ヒト肺から得た肺サーファクタントでウサギを免疫し、抗ヒト肺サーファクタントアポ蛋白抗体を作成した。そしてこれを用いて immunological micro-method である enzyme immunoassay (EIA) 系を確立し、わずか $10 \mu\text{l}$ もの微量検体で 10 ng/ml の高感度で測定し得ることを昭和58年度及び昭和59年度の本班研究において報告した。

そこで本年度の研究においては、RDS児を中心に新生児の気道吸引液について検討し、出生後の気道吸引液を用いての呼吸窮迫症候群(RDS)の診断について検討した。

研究方法

対象は出生直後より呼吸窮迫症状を呈し、気管内挿管を行なった在胎27~35週の新生児で、このうち経時的に気管内吸引液の検体を得られた12例である。これらの内訳は臨床的にRDS 確診例は9例、先天性肺炎1例、RDS 疑診(一過性多呼吸と鑑別困難例)3例である。気管内吸引液はまず 0.5 ml の 0.45% NaCl液を経チューブで気道内に注入し、baggingした後児の胸壁を軽く振動せしめ、改良型 de Lee suction catheter で十分に吸引することにより得た。各々の検体に $200 \mu\text{l}$ の蒸留水を加えて sonicate し、これをEIAによる肺

サーファクタントアポ蛋白測定に供した。

EIAは1昨年、昨年の本研究において確立した、N-N'-O-phenylene dimaleimideおよび β -galactosidase を利用したサンドウィッチ型EIA法を用いた。肺サーファクタントアポ蛋白量は 32 KDa 蛋白を standard とし、 32 KDa 蛋白相当量として表わした。また同一検体を用いて single radial immunodiffusion 法によりアルブミン含量を計測し、肺サーファクタントアポ蛋白のアルブミン比を求めた。

各々の例の臨床経過と重症度を表すため、気道吸引液を採取した各々の時点における $A-a\text{DO}_2$ を求め、肺サーファクタントアポ蛋白/アルブミン比と対比した。

研究成績

RDS と臨床的に診断した9例中8例は生存し、1例は生後54時間で死亡した。死亡例では広範な無気肺と組織学的に肺硝子膜形成を認めた。死亡例では終始 $A-a\text{DO}_2$ が高値を示し、肺サーファクタントアポ蛋白/アルブミン比は低値で、54時間の経過中最高でも1.3にすぎなかった。

生存例8例中5例では初期の肺サーファクタントアポ蛋白/アルブミン比はいずれも0.5未満ときわめて低値を示したが、臨床症状の改善と共に上昇した。すなわち $A-a\text{DO}_2$ の変化と鏡像を示した。図1は在胎33週出生体重 1838 g の例の経過を示したものである。

8例中2例に症候性の動脈管開存症(symptoma-

tic PDA)の合併をみたが、これらの例では一旦A-aDO₂の低下と共に肺サーファクタントアポ蛋白/アルブミン比の上昇がみられた後、PDAが顕性化するとA-aDO₂は再度上昇し、また肺サーファクタントアポ蛋白/アルブミン比も再度低下した(図2)。

37週、2300gのRDSの1例においては日齢3まで肺サーファクタントアポ蛋白は順調に増加してきたものの日齢4で突然低下した。ところがA-aDO₂はむしろこの時期に改善してきており、児の状態も臨床的に安定していたことから、日齢4の成績はartifact(例えば検体採取時の出血など)によるものと考えられた。

33週、2513gの先天性肺炎の1例は図3に示す如くで、肺サーファクタントアポ蛋白/アルブミン比の増加が緩徐であるにもかかわらず、A-aDO₂の改善はすみやかであった。これは肺胞内や気道に残存するアルブミンが影響しているものと考えられる。

一過性多呼吸と軽症RDSと臨床的に鑑別困難であった3例のうち1例では生後3時間では肺サーファクタントはほとんど検出されず、生後10数時間ですみやかな上昇を見、RDSと診断された。他の2例では生後間もなくより気道中に相当量の肺サーファクタントが検出され、一過性多呼吸と診断された。

考 察

気道吸引液を定量的に採取することはきわめて困難である。したがってこれまで我々が行ってきた気道吸引液中の肺サーファクタントアポ蛋白の絶対量の測定には問題が多い。そこで今回の研究では我々は血清蛋白の中心であるアルブミンをマーカーとし、アルブミンとの比で肺サーファクタント量を表すこととした。これは血清蛋白は一般に肺サーファクタントの阻害物質として働き、血清中の肺サーファクタント阻害蛋白量をアルブミン量で代表させようとの考えから出たものである。したがって肺サーファクタントアポ蛋白/アルブミン比は、肺サーファクタントの絶対的欠乏(量的欠如)のみならず、相対的欠乏(機能的欠如)

を示してくれるはずである。

今回の12例の新生児の気道吸引液についての成績から、肺サーファクタントアポ蛋白/アルブミン比が、RDS典型例では肺サーファクタントの絶対的欠乏を、PDA合併時には肺うっ血による相対的欠乏をよく表現していることが示された。本法はきわめて少量の検体で施行し得るきわめて高感度のものであるだけに新生児への応用に最適であろうと思われる。

今回はRDSを中心とした少数例についての成績であるが、今後は更に多数の各種疾患例についての検討や、人工サーファクタント投与例における検討がのぞまれる。

3年間のまとめ

- i. 肺胞蛋白症患者に治療の目的で行った気管支肺胞洗浄の際の洗浄液を得、これよりヒト肺サーファクタントを分離精製した。
- ii. ヒト肺サーファクタントに含まれるアポ蛋白を分析し、32KDa蛋白が基本蛋白であることを認めた。
- iii. ヒト肺サーファクタントに対する抗体をウサギで作成し、この抗体(IgG)を精製してEnzyme immunoassay系を確立した。
- iv. EIA法の感度は32KDa蛋白換算で10ng/mlと高感度で、わずかに10μl程度の微量検体で測定が可能となった。
- v. このEIA系を用いた羊水中肺サーファクタントアポ蛋白定量法では、1.5μg/ml未満でRDS発症の危険が大であり、1.5μg/ml以上ではRDS発症はみられなかった。
- vi. 新生児の気道吸引液中の肺サーファクタントをEIA系で測定したアポ蛋白量と、single radial immunodiffusion法で測定したアルブミンとの比で表わしたところ、RDSの臨床経過、症状をよく反映した。この方法により肺サーファクタントの絶対的不足(量的欠如)と共に相対的不足(機能的欠如)が診断可能となった。
- vii. 今後は更に多数の例、各種疾患時、更には人工肺サーファクタント投与後の経過を検討する必要がある。

RDS(33w5d, 1838g)

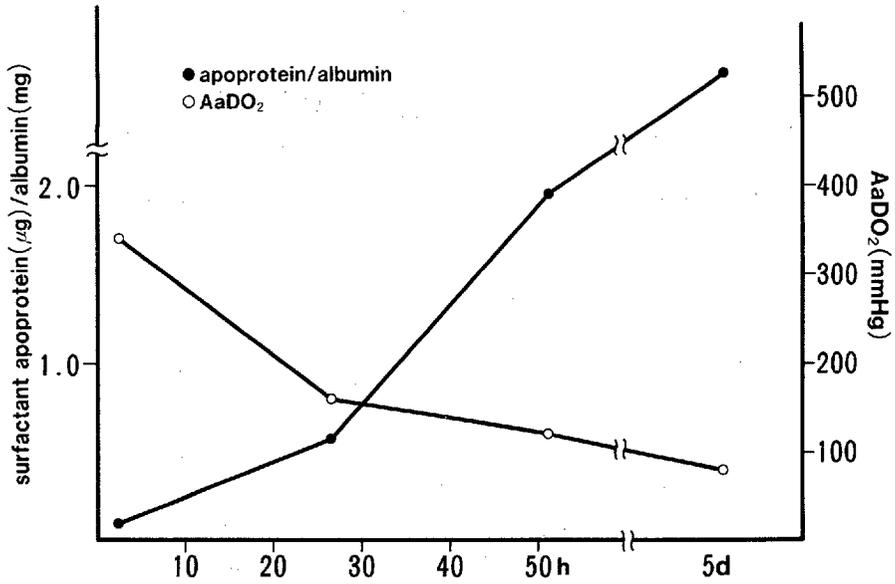


図1. RDS例における肺サーファクタントアポ蛋白/アルブミン化の経時的変化とA - a DO₂の経過

RDS(27w1d, 941g)

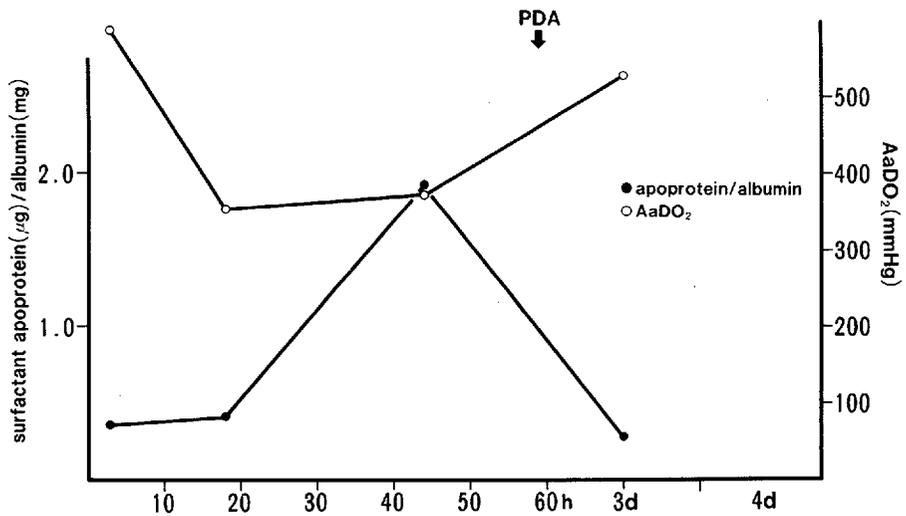


図2. RDSに症候性PDAを合併した際の肺サーファクタントアポ蛋白/アルブミン比の変化

congenital pneumonia(33w3d, 2513g)

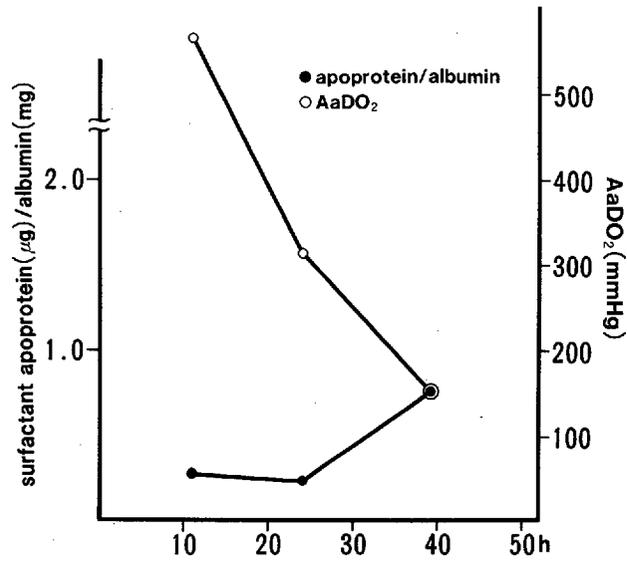


図3. 先天性肺炎例における気道吸引液中の肺サーファクタントアポ蛋白/アルブミン比

↓ **検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用 ↓
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります

研究目的

肺サーファクタントは脂質蛋白複合体であり,その蛋白部分には肺サーファクタントに特異的な蛋白が存在する。我々はこの特異蛋白,すなわち肺サーファクタントのアポ蛋白に注目し,ヒト肺から得た肺サーファクタントでウサギを免疫し,抗ヒト肺サーファクタントアポ蛋白抗体を作成した。そしてこれを用いて immunological micro-method である enzyme immunoassay(EIA)系を確立し,わずか $10\mu\text{l}$ の微量検体で 10ng/ml の高感度で測定し得ることを昭和58年度及び昭和59年度の本班研究において報告した。

そこで本年度の研究においては,RDS児を中心に新生児の気道吸引液について検討し,出生後の気道吸引液を用いての呼吸窮迫症候群(RDS)の診断について検討した。